

Aus der Poliklinik der Zahnerhaltungskunde der Klinik
und Poliklinik für Zahn-, Mund- und Kieferkrankheiten
der Johannes Gutenberg-Universität Mainz
(Direktor: Professor Dr. Dr. W. Ketterl)

**Klinische Untersuchungen über Plaque-
reduzierung durch protease- und dextranase-
haltige Zahnpasten**

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Würde eines
Doktors der Zahnheilkunde
der Hohen Medizinischen Fakultät
der Johannes Gutenberg-Universität Mainz

vorgelegt von
Adolf Clausen
aus Graal/Müritz

Mainz 1972

Aus der Poliklinik der Zahnerhaltungskunde der Klinik
und Poliklinik für Zahn-, Mund- und Kieferkrankheiten
der Johannes-Gutenberg-Universität Mainz
(Direktor : Professor Dr.Dr. W. Ketterl)

Klinische Untersuchungen über Plaquereduzierung durch
protease- und dextranasehaltige Zahnpasten

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Würde eines
Doktors der Zahnheilkunde
der Hohen Medizinischen Fakultät
der Johannes-Gutenberg-Universität Mainz

vorgelegt von
Adolf Clausen
aus Graal/Müritz

Mainz 1972



Dekan :

Professor Dr. A. Mayet

Referent :

Professor Dr.Dr. W. Ketterl

Tag der mündlichen Prüfung : 14. 7. 22

	Seite
I. Problemstellung	3
II. Zusammensetzung der Plaque	4
1. Plaqueaufbau	4
2. Plaqueanalysen (biochemisch)	5
3. Plaqueaufbau (bakteriologisch)	6
III. Parameter der Kariesentstehung aus den Plaques	8
1. Säurebildung	8
2. Bildung von intrazellulären Polysacchariden	9
3. Bildung von extrazellulären Polysacchariden	9
IV. Dextranasewirkung auf die Plaque	11
1. Angriffspunkt der Dextranase	11
2. Bisherige Versuche mit Dextranase	11
3. Einschränkung der Dextranasenwirksamkeit	12
V. Proteasewirkung auf die Plaque	14
1. Hypothetischer Angriff der Protease	14
2. Bisherige Versuche mit Protease	14
VI. Toxizität der Enzyme	16
VII. Beschreibung der Versuche	17
1. Die Pasten	17
2. Schematische Darstellung des klinischen Versuchsablaufs	17
3. Verteilung der Probanden	17
4. Plaquefärbungsmethode	18
5. Beschreibung der Aufzeichnung in das Zahnschema	19
6. Voraussetzungen für die Photographie der Plaques	22
7. Aufbau der Apparatur für die Photographie der Plaques	24
8. Maßnahmen nach der Plaqueregistrierung	25

	Seite
9. Plaueflächendifferenzbestimmung	26
a) Zeichnung	26
b) Photographie	27
VIII. Kritik an den Versuchen	28
1. Vor- und Nachteile der Photographie	28
2. Vor- und Nachteile der Zeichnung	29
3. Fehlerquellen beider Plaqueregistrierungs- methoden	29
4. Fehlerquellen durch den Probanden	30
IX. Statistische Auswertung	32
1. Tabellen der Flächendifferenzen	32
2. Ergebnis der statistischen Auswertung	34
3. Ergebnis des Vergleichstestes zwischen Auswertungsarten II und III	36
4. Graphische Darstellung der Mittelwerte	37
5. Aussage der Ergebnisse	37
X. Diskussion	39
XI. Zusammenfassung	41
XII. Literaturverzeichnis	42

I. Einleitung und Problemstellung

Fünfundneunzig Prozent (nach EULER (14)) der Bevölkerung hochzivilisierter Länder sind an Zahnkaries erkrankt. Der Umfang dieser "Volksseuche" läßt erschrecken, und wenn es sich auch nicht gerade um eine lebensgefährliche Krankheit handelt, so ist sie doch dazu befähigt, unsere Lebensäußerungen erheblich einzuschränken.

Es wäre daher ein erstrebenswertes Ziel, aufwendige zahnärztliche Behandlung, die zur Behebung solcher Schäden notwendig ist, durch einfache Prophylaxe zu ersetzen. Die bekanntesten Maßnahmen in dieser Richtung sind derzeit zweifellos die mechanische Zahnreinigung und die Applikation von Fluor in verschiedenster Weise. Die Wirksamkeit dieser Methoden zweifelt heute kaum noch jemand an; trotzdem sind auch hier die Meinungen nicht einhellig. HEIN (33) und SAVARA et al. (53) konnten keine Korrelation zwischen Zähneputzen und Kariesbefall feststellen. SCHMOLLICH (56) und FROST (17) erzielten keine signifikante Kariesreduzierung mit Fluorpasten. Außerdem ist es bisher noch nicht gelungen, die Kariesausbreitung entscheidend zu reduzieren, was die Suche nach anderen Möglichkeiten der Kariesprophylaxe berechtigt.

Es darf als gesichert vorausgesetzt werden, daß die Zahnbeläge ein wesentlicher Faktor der Kariesgenese darstellen (WANNENMACHER (60)), RIETHE (51)). Mechanische Entfernung dieser Plaques brachte nachweisbare Kariesreduzierung. (WEISSENSTEIN et al. (61), TRAULSEN (59), WANNENMACHER (60)).

In letzter Zeit wird eine andere Möglichkeit der Plaqueentfernung und der damit verbundenen Kariesreduzierung diskutiert. Sie hat ihre Grundlagen in der näheren Kenntnis des Plaqueaufbaues und des Mechanismus der Kariesentstehung aus der Plaque.

II. Zusammensetzung der Plaque

1. Plaqueaufbau

Nach SCHROEDER (54) gibt es zwei Arten von Plaques :

1. einen posteruptiven, bakterienfreien Zahnbelag,
2. einen posteruptiven, bakterienhaltigen Zahnbelag.

Der "bakterienfreie Belag" bildet sich sehr schnell immer wieder neu aus den Speichelglucoproteinen, die sich auf der Zahnhartsubstanz niederschlagen. Er ist strukturlos und hat keine pathologische Bedeutung für den Zahn.

Der "bakterienhaltige Belag" setzt sich zu 70 Vol% aus Mikroorganismen und zu 30 Vol% aus deren Stoffwechselprodukten, Glycoproteinen aus dem Speichel und Wasser zusammen. Er entsteht durch Einlagerung von Bakterien in den weichen, bakterienfreien Belag aus Speichelmucoid (MOTSCH (43)), indem durch Vermehrung der Mikroorganismen (hauptsächlich Kokken) sich Kokkenkolonien bilden, die palisadenförmig senkrecht zur Zahnoberfläche stehen können. Die Zwischenräume zwischen den einzelnen Kolonien (30% extramikrobieller Raum) werden hauptsächlich von den Stoffwechselprodukten der Mikroorganismen ausgefüllt (= extracelluläre Matrix). Manche dieser Mikroorganismen sind in der Lage, aus der Saccharose, die durch Nahrungsaufnahme an sie herangetragen wurde, wasserunlösliche (GUGGENHEIM und SCHROEDER (28), GUGGENHEIM und SCHROEDER (29)), Polysaccharide vom Dextran-typ zu bilden, die in den extramikrobiellen Raum, also extracellulär, abgelagert werden. Diese Polysaccharide verleihen der Plaque eine zähe Verfilzung und große Haftbarkeit.

Nach SCHROEDER (54) sind also die Grundbausteine dieser "mikrobiellen Plaques" folgende :

1. Mikroorganismen verschiedener Art,
2. extrazelluläre Polysaccharide und
3. Speichelfilme (Glucoprotein).

Speisereste, Epithelzellen und Leukozyten hält er nicht für Strukturbestandteile, sondern nur für Auflagerungen, die von den Mikroorganismen abgebaut werden.

Die drei angegebenen Strukturen hält auch GUGGENHEIM (31) für die Grundbausteine der Plaque.

2. Plaueanalysen (biochemisch)

Weitere Angaben über den Plaqueaufbau machen CRITCHLEY, SAXTON und KALENDO (9). Sie geben einen Überblick über die Rolle der Kohlenhydrat- und Proteinverbindungen bei der Plaquebildung aus der Sicht histochemischer, licht- und elektronenmikroskopischer Befunde. 1969 veröffentlichte ersterer (10) seine genauen Analysen über getrocknete Plaques. Er findet freie Aminosäuren, Zucker, Oligosaccharide, Polysaccharide, Glycopeptide und Proteine. Übereinstimmend mit SCHROEDER (54) gibt er an, daß die hochmolekularen Bestandteile durch Plaque-Bakterien abgebaut werden können.

KREMBEL, FRANK und DELUZARCHE (40) fraktionierten die Gesamt-plaque durch Zentrifuge und Filter in zelluläre und azelluläre Bestandteile und analysierten biochemisch die Fraktionen. Es ergab sich, daß der Kohlenhydratanteil sich hauptsächlich in den azellulären Fraktionen, also in der extrazellulären Matrix, befand, während die Proteine in den zellulären Fraktionen bei weitem überwogen. Dies ließe Rückschlüsse auf die Wirksamkeit der Proteasen zu, wie später noch erwähnt wird. Die Ergebnisse von KREMBEL u. Mitarb. (40) sind in folgender Tabelle zusammengestellt. Die Werte sind angegeben in Prozenten des Trockengewichtes :

Asche Freie Lipide Proteine K.hydr.

Gesamtplaques	10	10-14	40-50	13-17
Azelluläre Fraktionen	15	26-30	6,7-7	31-41
Zelluläre Fraktionen	11	1,3-5	40-70	7-14

3. Plaquaufbau (bakteriologisch)

In den Plaques kann man grob drei Schichten verschiedener Bakterienarten unterscheiden. Die oberflächliche Schicht setzt sich aus aeroben Keimen, den Neisserien, zusammen. Es folgen die mittlere Schicht mit den fakultativ anaeroben Keimen, den Streptokokken, und die Schicht der anaeroben Keime mit den Vayonellen.

Die Plaquestreptokokken werden als Urheber der Karies angesehen. Über ihr Mengenverhältnis in den Plaques gehen die Meinungen auseinander. Untersuchungen geben Prozentgehalte von 28-96% der insgesamt kultivierbaren Plaueflora an (RANKE (48)). Über die Plauebakterien und deren Aktivitäten in Beziehung zur Karies bestehen noch einige erhebliche Unklarheiten, wie in Abschnitt III, 1 und 2 dargestellt wird.

An einundzwanzig menschlichen Plaueproben führte RANKE (48) Untersuchungen über die Verteilung der Streptokokkenarten in Prozent der insgesamt auf Blutplatten kultivierbaren Plaueflora durch. Er kam zu folgenden Ergebnissen, die aber nicht von allen Autoren anerkannt werden :

Str.viridans	17,20%	Str.sanguis I	13,80%
Str. Gr.K.	12,83%	Str.sanguis IIA	7,07%
Str. Gr.H	1,01%	Str.sanguis IIW	6,56%
Str. Gr.M	1,89%		

Nicht-dextranbildende Strept.		Dextranbildende Strept.	
insgesamt	32,93%	(Sanguis-Arten)	
		insgesamt	27,43%

Generell teilt man die Plaque-Streptokokken in kariogene und nicht-kariogene Stämme ein. Diese Einteilung sagt primär nichts näher über den Aufbau des Mikroorganismus, sondern nur über seinen topographischen Ursprung aus. Kariogene Streptokokken isolierte man aus der Plaque kariesaktiver Gebisse, nicht-kariogene aus der kariesfreier.

Weitere Differenzierungen fanden statt, als man in der mikrobiellen Flora von den Zahnbelägen kariesaktiver Personen auch nichtkariogene Streptokokken fand.

So wurde als Maß für die Kariogenizität die Fähigkeit von aus Plaques isolierten Stämmen zur Kariesinduzierung kariesresistenter Gebisse genommen. Die Möglichkeiten solcher Auslösung sind hinreichend beschrieben (z.B. ZINNER u.Mitarb. (64), KRASSE (38), GUGGENHEIM u. SCHROEDER (28), EDWARDSON (13)).

III. Drei Parameter der Kariesentstehung aus den Plaques

1. Säurebildung

GEHRING (19, 20), wie auch RANKE (47), sind der Ansicht, daß die Säurebildungsfähigkeit der Plaquestreptokokken eng mit der Kariesentstehung zusammenhängen. Als besonders aktiver Säurebildner wurden streptococcus mutans und ähnliche Stämme festgestellt. (EDWARDSON (13)). EDWARDSON (13) konnte mit diesen isolierten Bakterienstämmen an Albino-Hamstern floride Karies erzeugen. Es schien bis jetzt gesichert, daß streptococcus mutans, ein starker Säurebildner, Urheber der Karies sei, bis RANKE (47) bei bakteriologischen Plaqueuntersuchungen kaum mutans-Stämme fand, sondern hauptsächlich streptococcus sanguis. Das gleiche wurde schon 1965 und 1967 von CARLSSON (4, 5, 6) festgestellt, der diese Stämme 1968 als streptococcus sanguis II eingruppierte. RANKE (47) konnte in der Arbeit von 1969 nachweisen, daß auch die sanguis-Stämme Milchsäurebildner sind, zwar nicht in dem Maße wie streptococcus mutans, aber er hielt sie wegen ihres häufigen Vorkommens für sehr wichtig im Kariesgeschehen für den Menschen.

Zu anderen Ergebnissen kamen de STOPPELAAR, van HAUTE und de BACKER DIRKS (58). Sie fanden streptococcus mutans häufiger an Flächen mit frischen Kariesläsionen und weisen streptococcus sanguis keine Beziehung zur Karies zu.

Auch KRASSE et al. (39) fanden streptococcus mutans häufiger.

1970 konnte RANKE (49) dann keinen signifikanten Unterschied zwischen dem Milchsäurebildungsvermögen von Streptokokken aus Plaques von karies-aktiven und karies-freien Gebissen feststellen, wie JORDAN (34) schon 1965 zeigen konnte.

Dies spricht gegen eine Beziehung von Säurebildungsvermögen

zu Kariogenizität der Streptokokken. Die Untersuchungen von RANKE (49) wurden aber nur an Viridans-Stämmen durchgeführt, Untersuchungen an sanguis-Stämmen stehen, wie angekündigt, noch aus.

2. Bildung von intrazellulären Polysacchariden (IPS)

GIBBONS und SOCRANSKY (21) stellten bei manchen Streptokokkenarten die Fähigkeit zur intrazellulären Polysaccharidsynthese bei extrazellulärem Überangebot von Zucker fest. Außerdem konnten sie nachweisen, daß die Anzahl der IPS-bildenden Mikroorganismen - vorwiegend streptococcus viridans - bei karies-aktiven Personen signifikant höher lag. GIBBONS (23) vermutet, daß diese Polysaccharide bei ihrem Abbau Säuren liefern und damit das Säurepotential der Plaques erhöhen. Sie können als Kohlenhydratreserven angesehen werden, die die Plaque-Flora in die Lage versetzen, noch längere Zeit nach Nahrungsaufnahme Milchsäure zu bilden. Sie wird u.U., beispielsweise bei vermindertem Speichelfluß während der Nachtruhe, nicht mehr abgepuffert und greift den Zahnschmelz an (RANKE (48)).

Unumstritten sind jedoch auch diese Ansichten nicht. RANKE (49) selbst veröffentlichte in einer späteren Arbeit neue Ergebnisse : Der prozentuale Anteil der IPS-Bildner bei viridans-Stämmen aus den Belägen karies-freier Gebisse lag wesentlich höher als bei Stämmen karies-aktiver.

3. Bildung von extrazellulären Polysacchariden (EPS)

DONOHUE u.Mitarb.(11) fanden 1966 eine extrazelluläre Polysaccharidbildung bei spezifischen kariogenen Streptokokken. Diese Mikroorganismen, streptococcus sanguis und streptococcus mutans, haben die Fähigkeit, aus Saccharose dextran-ähnliche extrazelluläre Polysaccharide aufbauen zu können,

wenn ihre IPS-Speicher gesättigt sind (GUGGENHEIM und SCHROEDER (28); GUGGENHEIM (27); WOOD und CRITCHLEY (65); EDWARDSSON (13)). Man mißt den Dextranen eine wichtige Rolle bei der Kariesentstehung bei.

Sie dienen nicht, wie die IPS, als Reservestoffe, denn sie können von der Mundflora nicht abgebaut werden (GUGGENHEIM und SCHROEDER (28), GUGGENHEIM (29)) :

In vitro bildeten diese Polysaccharide mit Speichel wasser-unlösliche Komplexe, die fest an den Zahnoberflächen hafteten (GIBBONS und BANGHART (22)). Diese Eigenschaft läßt sie zu einem erheblichen Teil zum Aufbau der Zahnplaque beitragen. Unterhalb einer derartigen, oft sehr dicken Dextranplaque, können anaerobe Bedingungen über längere Zeit aufrechterhalten werden, wobei sich Säuren anreichern und für die Schmelzlösung ausreichend niedrige pH-Werte erreicht werden können. Extrazelluläre Polysaccharide isolierten CRITCHLEY u.Mitarb. (8) erstmals 1967 aus menschlicher Plaque, und ebenfalls GIBBONS und BANGHART (22) aus Plaque von Mensch, Hamster und Ratte. GUGGENHEIM und SCHROEDER (28) untersuchten solche isolierten Plaques chemisch und elektronenoptisch. Die morphologisch nicht einheitlichen Strukturen stellten ein α - 1:3, 1:4 verzweigtes Dextran dar.

Ein Zusammenhang zwischen dem Etablierungsvermögen der inokulierten Dextranbildner im Speichelfilm aus Glucoproteinen auf dem Zahn, der Synthese dextranähnlicher extrazellulärer Mucopolysaccharide, verstärkter Plaquebildung und Kariesbefall wurde aus Tier- und Humanversuchen verschiedener Autoren nach Verfütterung von Saccharose deutlich (CARLSSON (5, 7); FROSTELL, KEYES und LARSON (18); GUGGENHEIM u.Mitarb. (27); JORDAN und KEYES (35); KRASSE (37)).

IV. Dextranasewirkung auf die Plaque

1. Angriffspunkt der Dextranase

Nach den bisherigen Ausführungen ist es einleuchtend, durch Beseitigung der Dextrane die Plaque zu zerstören, die nicht nur unter ihrem Schutze die Milchsäure zu hohen Konzentrationen ansteigen läßt, sondern immer wieder Nährboden für neue säurebildende Mikroorganismen abgibt. Diese Möglichkeit scheint durch das Enzym Dextranase gegeben, das aus Schimmelpilzkulturen isoliert wird und Dextrane abbaut.

2. Bisherige Versuche mit Dextranase

BOWEN (3) berichtet 1968 über Versuche mit Dextranase aus *Penicillium funiculosum*, welche in der Lage war, durch Streptokokkenreinkulturen gebildetes Dextran, wie auch solches aus der Plaque kariesaktiver Gebisse von Eseln, aufzulösen. Dabei konnte er feststellen, daß die von kariogenen Streptokokkenstämmen gebildeten Dextrane sich schlechter hydrolysieren ließen, als die von nicht-kariogenen.

FITZGERALD u.Mitarb. (15) hatten dagegen auch bei in-vivo-Versuchen Erfolg. Sie mischten ein *Penicillium*-Dextranasepräparat der kariogenen Kost und dem Trinkwasser von Hamstern zu und konnten eine signifikante Plaque- und Kariesreduzierung feststellen. Die Lebensfähigkeit der dextranbildenden Streptokokken wurde nicht eingeschränkt, was auf den alleinigen Angriff des Enzyms auf die EPS schließen läßt.

Auch BLOCK u.Mitarb. (2) konnten an Hamstern nach Dextranaseverfütterung eine Abnahme von Plaques und Karies beobachten. Bereits gebildete Plaques verschwanden.

3. Einschränkung der Dextranasewirksamkeit

KÖNIG und GUGGENHEIM (36) kamen zu differenzierteren Ergebnissen. Sie verabreichten Ratten Dextranase - die in vitro extrazelluläre Dextranbildung kariogener Streptokokken verhinderte - in Futter und Trinkwasser. Bei relativer Gnotobiose der Tiere mit Stämmen von streptococcus mutans wurde bei HS-Stamm 176 E und Dextranase im Futter und Trinkwasser keine Hemmung, bei HS-Stamm 61 E und FA-Stamm 71 R bei Dextranase in Futter und Trinkwasser dagegen eine deutliche Hemmung von Plaques und Karies beobachtet.

Aus Versuchen von 1969 (GUGGENHEIM, KÖNIG, MÜHLEMANN, REGOLATI (30)) mußte weiterhin geschlossen werden, daß von der ortsständigen Bakterienflora nicht nur die Dextrane bildenden Bakterien an der Kariesentstehung beteiligt sind, sondern daß auch andere azidogene Mikroorganismen mitwirken, deren Aktivität nicht von Dextranase beeinflusst wird.

Die Erfahrung, daß auch Nicht-Dextranbildner kariogen wirken können, machten ebenfalls ROSEN, LAMEY und O'MALLEY (52).

Außerdem sollte die genaue biochemische Wirkung der Dextranase nicht unbeobachtet bleiben. Die EPS setzen sich aus α - 1:3, 1:4 verzweigten Dextranen zusammen (GUGGENHEIM und SCHROEDER (28)), während die Dextranasen 1:6 Bindungen spalten. Er untersuchte aber nur die EPS von bestimmten Streptokokkenstämmen (OMZ 61 und OMZ 176). Verschiedene Streptokokkenarten werden aber auch verschieden aufgebaute EPS synthetisieren. Wenn dazu der bakteriologische Aufbau der Plaque noch nicht vollständig geklärt, beziehungsweise von Individuum zu Individuum verschieden ist, und die Zuordnung der verschiedenen Stämme, wie auch die Eigenschaften derselben (Milchsäurebildungsvermögen; IPS-Bildung) zur Kariogenizität oder Nicht-Kariogenizität noch nicht eindeutig

ist, gestattet sich dann eine Aussage über die karieshemmende Wirkung nur einer Dextranaseart? Zu bedenken seien weiterhin die Variationen in der Synthese von EPS bei kariogenen Streptokokken durch Veränderung ihrer Lebensbedingungen, wie GIBBONS und BANGHART (24) dies beschrieben.

Noch unsicherer wird der Erfolg, wenn die Dextranase als Kariesprophylaktikum beim Menschen angewendet werden soll. LEACH (41) hält die optimale Wirkung des Enzyms nur für gegeben, wenn es gleichzeitig mit der Nahrung an den Wirkort gebracht wird. Das mag zwar bei kariogener Rattenkost angehen, beim Menschen aber wegen der mannigfachen Speisezubereitung kaum möglich sein.

V. Proteasewirkung auf die Plaque

1. Hypothetischer Angriff der Protease

Der Angriffspunkt der Proteasen auf die Plaque scheint nicht so günstig wie jener der Dextranasen. Wie schon in Abschnitt II, 2. erwähnt, besteht nach KREMBEL und Mitarb. (40) der größte Teil der Proteine in den Plaques aus zellulären Bestandteilen. Diese aber werden von der Alkalase nicht angegriffen. Es bleibt also nur ein geringer Eiweißbestandteil der weichen Beläge, an dem das Enzym seine Wirkung entfalten kann. Meines Erachtens liegt der Hauptwirkungsmechanismus der Plaquereduzierung durch Proteinase in der Beseitigung des initialen Speichelfilms aus Speichel-Glucoproteinen (SCHROEDER (54)) beziehungsweise Speichelmucoid (Proteine + Mucopolysaccharide) (MOTSCH (43)), der sich zuerst auf der gereinigten Zahnoberfläche bildet und bei Nichtbeseitigung den Grundbaustein für die später fest haftende Plaque bildet.

2. Bisherige Versuche mit Protease

Erfolge mit aus Pilzkulturen gewonnenen Enzymen machten schon 1963 PACKMANN u. Mitarb. (45). Sie liessen Studenten proteasehaltigen Kaugummi kauen und konnten eine Verzögerung der Bildung weicher Zahnbeläge beobachten. Über den Mechanismus der Verzögerung konnten sie noch keine Aussagen machen. Mit Proteinase-Zahnpasten konnte 1963 HARRISON (32) eine Plaquereduzierung an Probanden erzielen.

Neuere Untersuchungen über Plaqueentfernung mit Protease stammen von MÖLLE (42) und RICHTER (50) und SHAVER et al. (55). Es wurden zwar Erfolge erzielt, aber über den Angriffsmechanismus des Enzyms keine genauen Angaben gemacht. So beschreibt zum Beispiel RICHTER (50), daß die Wirkstoffe in

der von ihm getesteten Paste, Trypsin und Chymotrypsin, makromolekulare Eiweiße zu kleineren Einheiten spaltet, die dann vom Speichel "wahrscheinlich" besser weggespült werden als größere. Da die Festigkeit der Plaque hauptsächlich von den Dextranen herrührt (SCHROEDER (54)) und der extrazelluläre Eiweißanteil sehr gering ist, halte ich eine Wirkung der Protease auf schon bestehende Plaques für unwahrscheinlich.

VI. Toxizität der Enzyme

Ein weiteres Problem ist die Toxizität der Enzyme. Obwohl verschiedene Autoren die Protease aus *Bacillus subtilis* für nicht toxisch halten (GRIFFITH et al. (26); GLOXHUBER et al (25); ADAM et al. (1)), sind doch schädigende Wirkungen dieser Substanz auf den menschlichen Organismus festgestellt worden. Vor allem wurden Hautallergien beobachtet (DUCKSBURY et al. (12); NEWHOUSE (44); STEIGLEDER (57)), aber auch Asthma bronchiale als allergische Reaktion auf Proteinasen beschrieben (FLINDT (16); WÜTHRICH und OTT (62); WÜTHRICH (63); PEPYS (46)). Die Beobachtungen über die schädigende Wirkung wurden hauptsächlich an Arbeitern aus der Waschmittelindustrie gemacht, die bei der Herstellung "biologisch-aktiver Waschmittel" in dauerndem Kontakt mit den Proteinasen standen. Es ist sehr fraglich, ob die Alkalase in so geringer Konzentration in der Paste auch schädlich ist.

Wie toxisch die Dextranase auf den menschlichen Organismus wirkt, ist noch nicht geklärt (LEACH (41)).

VII. Beschreibung der Versuche

1. Verwendete Pasten

In folgendem Versuch wurde die Wirksamkeit von Dextranase, Protease und einem Gemisch aus beiden klinisch getestet. Die Enzyme wurden den Probanden in Form von Zahnpasta herkömmlichen Grundaufbaues zweimal täglich zugeführt. Es wurden vier verschiedene Zahnpasten hergestellt. Die Grundsubstanz, Putzkörper etc. sind bei allen vier Pasten völlig gleich. Sie unterscheiden sich lediglich durch einen Wirkstoff : eine Paste enthält Dextranase. Sie soll die von den Bakterien extrazellulär gespeicherten Polysaccharide (Dextrane), auflösen.

Die zweite Paste enthält Protease zur Auflösung der initialen Proteinstrukturen der Plaque. Die dritte enthält eine Kombination aus Dextranase und Protease. Die vierte Paste schließlich enthält zum Vergleich keinen Wirkstoff.

2. Schematische Darstellung des klinischen Versuchsablaufes

Es werden nun bei Probanden mit einer speziellen Färbung die Plaques sichtbar gemacht und ihre Ausdehnung registriert. Dann putzen diese für 6 Wochen mit einer der vier Pasten die Zähne. Schließlich wird wiederum die Ausdehnung der Plaques registriert.

3. Verteilung der Probanden

Es werden deshalb vierzig Personen zufällig in vier Gruppen aufgeteilt, so daß jede Gruppe aus zehn Personen besteht. Für jede Gruppe soll eines der vier Verfahren angewendet werden, und zwar putzte

Gruppe H mit proteinasehaltiger Paste

0,15% Alcalase

4,0 % Anson Einheiten

Gruppe G mit dextranasehaltiger Paste

0,4 % Dextranase

3 Mill.DAE (= Dextranaseeinheiten)⁺⁺

Gruppe I mit einer Mischung aus gleichen Teilen
von H und G

Gruppe K mit einer Placebo-Paste

Dem Versuchsdurchführenden war bis zum Ende der Auswertung der Versuche die Verteilung der jeweiligen Pastenart auf die vier Gruppen unbekannt. Die Untersuchungen wurden also nach den Regeln des doppelten Blindversuches durchgeführt.

4. Plauefärbungsmethode

Zuerst wurde nun die Plaque des einzelnen Probanden durch Färbung sichtbar gemacht. Dazu ließ man ihn eine erythrosin-haltige Färbetablette (2% Erythrosine) zerkauen. Die Tablette löst sich im Speichel, den der Proband nun eine Minute lang mit der Zunge um die Zähne spülen muß. Dann spuckt er den Speichel aus, spült aber nicht nach. Alle mit Plaques bedeckten Abschnitte sind jetzt, sehr gut sichtbar, rot gefärbt.

⁺⁺ Ein Dextranasepräparat hat 5000 DAE, wenn 1 mg davon in 20 Minuten bei 37°C und pH 6,0 1 mg Leuconostoc-Dextran, so stark verflüssigt, daß seine Viskosität der des Wassers gleichkommt.

Beschreibung der Aufzeichnung in das Zahnschema

s wird nun der Verlauf der Plaques an den Zähnen

13	12	11	21	22	23
43	42	41	31	32	33

n der labialen und lingualen Fläche in ein vorgefertigtes
ahnschema folgenden Aufbaues eingezeichnet : (s.S. 20 und 21)

ür jeden Patienten gab es zwei einzelne Blätter dieser
rt, eines für die Eintragungen von Beginn und eines für
ie zum Ende des Versuches nach sechs Wochen. Es wurden
ewußt die zwei Blätter angefertigt, um eine Beeinflussung
er zweiten Aufzeichnung durch die erste zu verhindern.

Gruppe : J

21. Proband

Versuch : 1 am : 20.1.1971

Name : Fr. G.

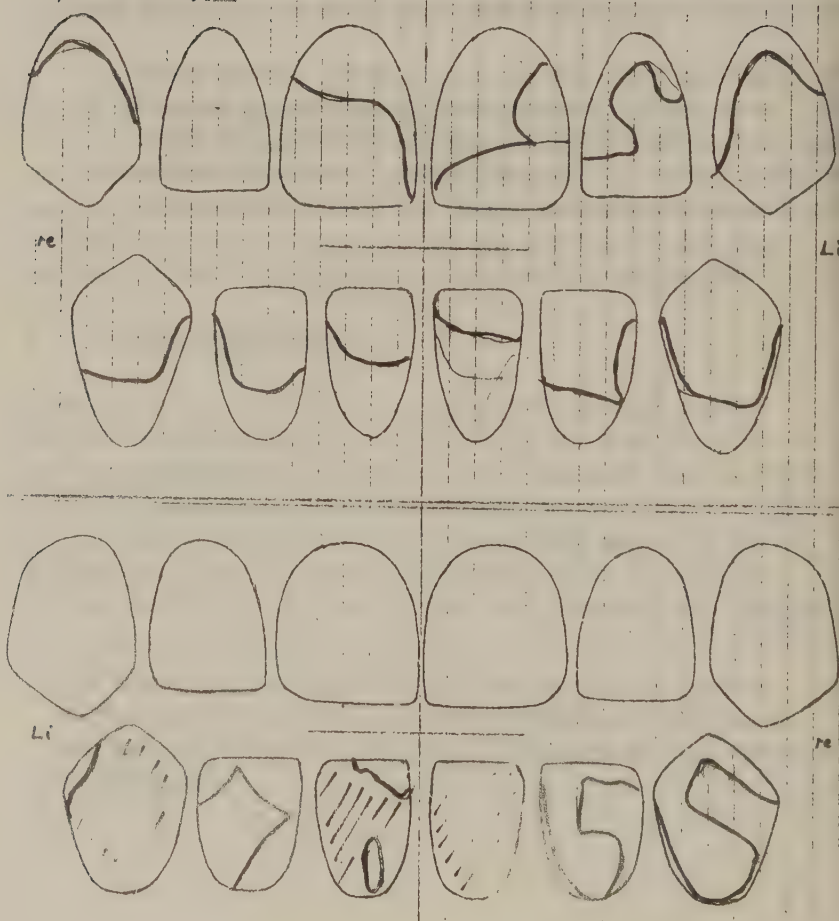
um : 11.25 Uhr

Bemerkungen :

Photohöhe 94,8 cm

Stuhlhöhe 46,4 cm

Photoentf. 8,2 cm



Gruppe : J

21. Proband

Versuch : 2

am : 3.3.1971

Name : Fr. G.

um : 10.50 Uhr

Bemerkungen :

Photohöhe 94,8 cm

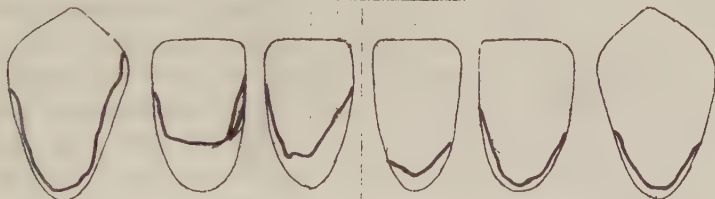
Stuhlhöhe 46,4 cm

Photoentf. 8,2 cm



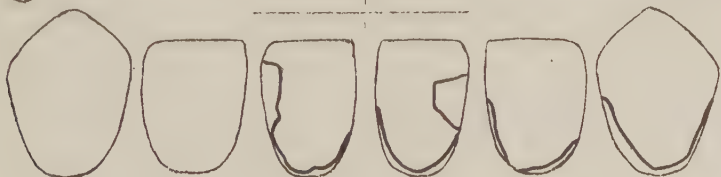
re

li



li

re



6. Voraussetzungen für die Photographie der Plaques

Als nächstes wurden die Plaques photographisch festgehalten mit dem Ziel, auch hier eine flächenbezogene Plaquemessung durchzuführen. Dazu war es erforderlich, von Photo zu Photo den gleichen Abstand von Film zu Zahnreihe, die gleiche Entfernungseinstellung des Objektivs und den gleichen Winkel zwischen der Strecke Filmmitte - Zahnkreuz und Zahnbogentangente in der Horizontalen und auch in der Vertikalen einzuhalten.

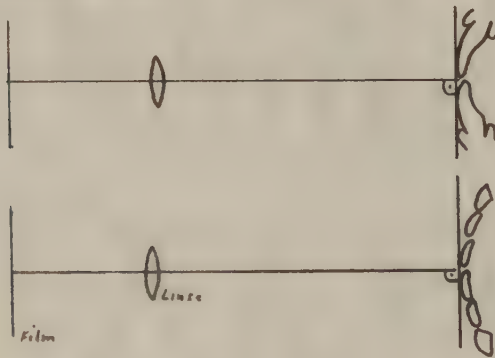


Abb. 1 Einhaltung der Winkel von Proband zu Proband bei der photographischen Aufnahme (siehe Text)

Nur so erhält man auf dem Film jeweils verkleinerte Zahnreihen, die flächenmäßig annähernd im gleichen Verhältnis zueinander stehen wie die natürlichen. Annähernd nur deshalb, weil verschieden stark gekrümmte Zahnbögen auf jeweils die gleiche Ebene projiziert werden.

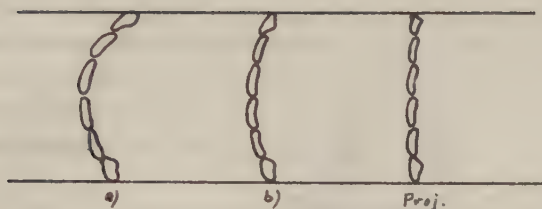


Abb. 2 Bei Zahnbogen a) ist der Umfang von 3 zu 3 viel größer als bei b). In der Projektion sind beide Bögen gleichlang

Diese Abbildung kann man wiederum mit einem Projektor auf eine Leinwand mit Raster projizieren, wobei wieder Abstand Film - Leinwand, Schärfeneinstellung des Objektivs und Projektionswinkel zwischen Strahlengang und Leinwand in der Horizontalen und Vertikalen gleich bleiben müssen. Man kann dann die Rasterpunkte zählen, die in die Plaquebedeckung fallen, und hat somit ein Maß für die Flächen.

7. Aufbau der Apparatur für die Photographie der Plaques

Ermöglicht wurden die gleichbleibenden Verhältnisse beim Photographieren durch eine entsprechende Einrichtung.

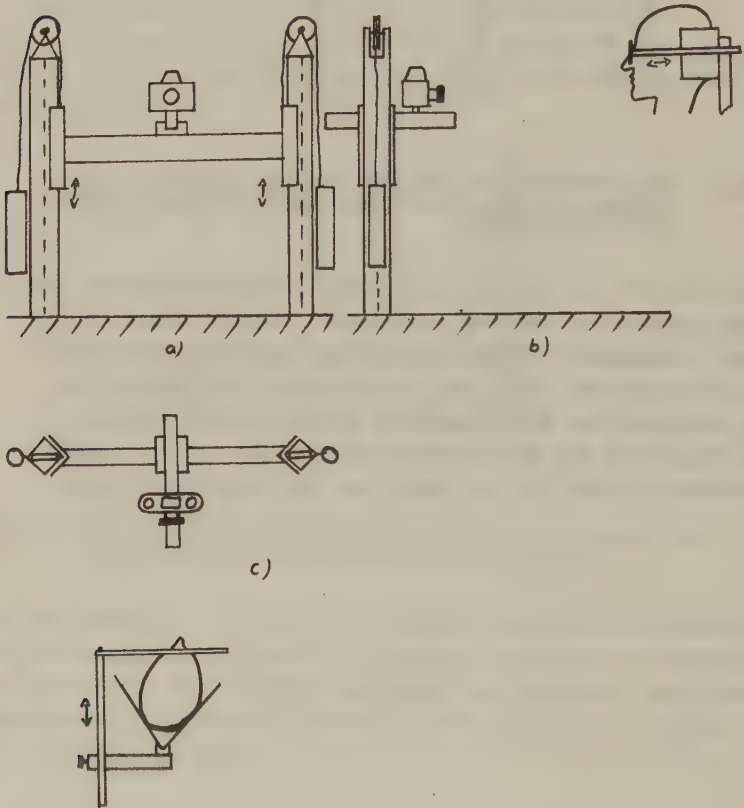


Abb. 3 a) Ansicht von vorn
b) Seitenansicht
c) Ansicht von oben

Zwischen zwei im Boden verschraubten, senkrecht stehenden, vierkantigen Profileisen läuft ein waagrecht Balken auf und ab, so daß seine waagrechte Lage in gleicher Stellung dadurch garantiert ist. Auf diesem Balken kann man eine Kamera mittels Zahnstange senkrecht zum Balken vor- und zurückbewegen. Der Balken wird über Drahtseil und Rolle von Gegengewichten gehalten und kann durch Schrauben in jeder Stellung fixiert werden.

Der Proband sitzt in einem Zahnarztstuhl vor dem Objektiv der Kamera. Sein Kopf wird fixiert durch eine Nackenstütze und eine Art Brille, die über dem Nasenrücken liegt und mit der Kopfstütze so verbunden ist, daß sie nur von ihr weg und zu ihr hin bewegt werden kann. Man kann den Kopf also fest zwischen Kopfstütze und Brille einklemmen und damit Seitwärtsdrehungen des Kopfes ausschalten.

Der größte Proband wird nun in den Stuhl gesetzt, Nackenstütze und Brille auf die richtige Höhe eingestellt und fixiert, sein Kopf durch Zurückschrauben der Brille festgehalten und die Kamera auf die richtige Höhe eingestellt. Die Einstellung wird im wesentlichen so gelassen, beim kleineren Probanden wird der Stuhl entsprechend hochgepumpt. Man kann so vermeiden, mit unterschiedlichen Winkeln (wie auf Seite 21 angegeben) zu photographieren. Die Entfernung von Zahnreihe zu Film wurde gemessen und stets gleich gehalten.

8. Maßnahmen nach der Plaqueregistrierung

Nach der Photographie putzten sich die Probanden schon mit der jeweiligen Enzypaste die Zähne plaquefrei und wurden nach sechs Wochen wiederbestellt mit der Bitte, unter gleichen Voraussetzungen wie bei der ersten Vorstellung zu erscheinen, was den Zeitpunkt des letzten Zähneputzens vor der Plaquefärbung betrifft. Damit sollte die Möglichkeit eingeschränkt

werden, daß z.B. die Probanden einmal mit frischgeputzten, das andere Mal mit ungeputzten Zähnen untersucht werden. Außerdem wurde ihnen aufgetragen, zweimal täglich drei Minuten die Zähne zu putzen.

Die zweite Plaqueregistrierung nach 6 Wochen festgelegten Zähneputzens erfolgte in der gleichen Weise wie die erste. Es wurde wieder von jedem Patienten die Plaque abgezeichnet und photographiert.

9. Plaqueflächendifferenzbestimmung

a) Zeichnung

Die Flächenbestimmung bei der Plaquezeichnung wurde mit einer Klarsichtrasterfolie durchgeführt. Jeder Punkt des Rasters steht für eine bestimmte Flächeneinheit. Die Rasterfolie wird nun in immer der gleichen Weise auf die Blätter mit den Zahnschemata gelegt und durch Auszählen der Punkte, die in die Plaque-bedeckten Flächen fallen, eine Verhältniszahl für die Fläche ermittelt. Indem ich bestimme, wie viele Punkte auf einen Quadratmillimeter fallen, kann ich einen Umrechnungsfaktor ermitteln, der nun die Berechnung der Fläche in gebräuchlicher Maßeinheit ermöglicht.

Wenn ich nun die zweite Plaquemessung beim jeweiligen Probanden von der ersten subtrahiere, erhalte ich eine Maßzahl für die Plaqueänderung. Hat die Maßzahl ein positives Vorzeichen, so hat sich die Plaqueausdehnung während der letzten sechs Wochen verringert; hat sie ein negatives, so hat die Plaque zugenommen.

b) Photographie

Die Dias wurden bei gleichbleibendem Abstand zur Leinwand projiziert. Das Lichtbündel traf die Leinwand senkrecht. Die Entfernung des Projektors von der Leinwand wurde so gewählt, daß die durchschnittliche projizierte Zahngröße der Größe der Zähne im gezeichneten Zahnschema entsprach. Damit ist die Möglichkeit gegeben, annähernd Zeichnung und Photographie zu vergleichen. Als Leinwand wurde Millimeterpapier genommen, auf das jeweils die Umrisse der Plaqueausdehnung der jeweiligen Zahnreihe von der Projektion abgezeichnet wurden. Für jeden Probanden existieren also zwei Bogen Millimeterpapier, einmal mit der aufgezeichneten Plaquefläche der ersten Plaquephotographie, einmal mit der nach sechs Wochen. Das Maß für die Fläche konnte leicht über die Millimetreinteilung ermittelt werden. Maßzahlen für Plaquevermehrung oder -reduzierung wurden so erstellt, wie schon für die Zeichnung erläutert; es wurde also die ermittelte Fläche nach dem Versuch von der vor dem Versuch subtrahiert und so ein Wert für die Plaquereduzierung festgestellt.

VIII. Kritik an den Versuchen

1. Vor- und Nachteile der Photographie

Die Methode mit der Photographie hat den Nachteil, daß nur Plaqueflächen im vestibulären Frontzahnbereich zu erfassen sind. Strenggenommen kann er nicht stellvertretend für die gesamte Mundhöhle angenommen werden, da er unmittelbare Beziehung zum extraoralen Raum hat. Temperaturverminderung beim Sprechen können die Enzymaktivität herabsetzen (RGT-Regel), und auch die geringere Speichelbenetzung der vestibulären Zahnflächen könnten der Wirksamkeit der Enzyme hinderlich sein. Es müßte also der Effekt der Pasten in der übrigen Mundhöhle günstiger sein. Eine weitere Fehlerquelle wäre, wie schon erwähnt, in verschiedenen stark gekrümmten Zahnbögen zu suchen. Beim stark gekrümmten werde ich photographisch weniger Fläche aufnehmen können als tatsächlich vorhanden ist. Wenn ich die Plaque von jedem Zahn einzeln abzeichne, entfällt dieser Fehler.

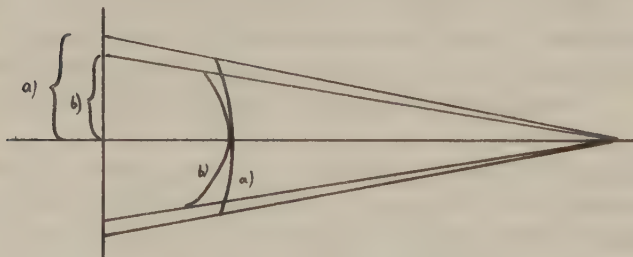


Abb. 4 Bogen a) und b) haben die gleiche Länge. In der Projektion zeigt jedoch a) eine größere Ausdehnung als b).

Der große Vorteil dieser Methode liegt aber in ihrer Objektivität. Es entfällt praktisch vollständig der Fehler von der Übertragung der Plaqueausdehnung auf zweidimensionale, meßbare Größen. Die den Versuch durchführende Person wird als Fehlerquelle ausgeschaltet.

2. Vor- und Nachteile der Zeichnung

Bei der zeichnerischen Methode werden zwar auch die oralen Zahnflächen der Frontzähne miterfaßt, aber die Möglichkeit einer neuen Fehlerquelle ist gegeben, und zwar durch die subjektive Übertragung des Zeichners.

Außerdem wurde die Zahngröße vereinheitlicht, da für jeden Probanden das gleiche vorgefertigte Zahnschema zur Eintragung der Plaque benutzt wurde, ungeachtet dessen, daß Zahngröße und -form von Proband zu Proband verschieden waren. Es wird also zum Beispiel bei einem kleinen Zahn die Plaquefläche dem größeren Zahn gegenüber relativ erhöht, und somit auch die Plaquereduktion, obwohl sie vielleicht sogar geringer ist. Vorteile der Zeichnung ergeben sich aus den Nachteilen der Photographie. Man kann die oralen Zahnflächen mit erfassen und erhält keine Fehler durch verschiedene Zahnbogenkrümmung, da jeder Zahn einzeln registriert wird.

3. Fehlerquellen beider Plaquerregistrierungsmethoden

Fehler durch verschieden starke Zahnkrümmungen sind bei beiden Registrierungsverfahren gleich. Es findet hier wie dort eine Projektion eines dreidimensionalen Körpers auf eine Ebene statt. Weitere Kritik gilt der flächenhaften Plaquerregistrierung überhaupt. Man wird so immer nur die Ausdehnung der Plaque messen können, und nie ihre tatsächliche Menge, sei es an Gewicht oder Volumen.

Es wäre durchaus denkbar, daß die Enzympaste die Plaque in den sechs Wochen in ihrer Dicke bis auf einen dünnen Film verringert hat, ohne viel an ihrer flächenhaften Ausdehnung zu ändern. Diesen Abbau würde man nicht registrieren können, so lange eine solch dünne Plaquebedeckung mit Erythrosine noch färbbar ist. Es hat dieser Fehler aber nur dann Bedeutung,

wenn die Karies der Plaquemenge und nicht der Plaqueausdehnung proportional ist.

Es stellt sich weiterhin die Frage, ob von einer Wirkung der Enzyme auf die Frontzähne auch auf eine Wirkung im Molarenbereich und vor allem in Approximalräumen geschlossen werden kann. Besonders eine Wirkung in den Approximalräumen wäre sehr wünschenswert, weil hier eine mechanische Plaqueentfernung kaum möglich ist.

Wenn überhaupt irgendwo eine Wirkung der Enzyme auf die Plaque festgestellt werden kann, dann muß sie auch überall in der Mundhöhle möglich sein, da sich die Enzyme im Speichel verteilen und der Speichel die gesamte Mundhöhle benetzt. Es können höchstens Unterschiede in der Enzymkonzentration im Speichel und der Enzymaktivität bestehen.

Die Enzymkonzentration wird z.B. in der Nähe der Ausführungsgänge der Speicheldrüsen geringer sein, da hier der unmittelbare Speichelabfluß laufend verdünnend wirkt. Die Enzymaktivität wird vermutlich an den labialen Zahnflächen geringer sein, da hier niedrigere Temperaturen herrschen als in der Mundhöhle. Ist in irgendeinem Zahnabschnitt also eine Wirkung in Form der Plaquereduzierung nachgewiesen, so wird sie auch in anderen Abschnitten vorhanden sein, nur eben stärker oder schwächer. Es ist dann nur noch eine Frage der Enzymkonzentrationsänderung, um entsprechende prophylaktische Wirkung gegen Zahnkaries zu erhalten.

4. Fehlerquellen durch den Probanden

Die größte Fehlerquelle dieser Versuchsanordnung wird beim Probanden selbst liegen. Es kann als unwahrscheinlich angesehen werden, daß jeder Proband die angegebene Putzdauer

und -häufigkeit einhält, oder die gleiche Pastenmenge verbraucht. Nicht vereinheitlichen kann man die psychischen Unterschiede der Probanden : einer wird, im Bewußtsein, einem Versuch zu dienen, vielleicht intensiver putzen als ein anderer, der sich dadurch nicht beeindrucken läßt. Der mechanische Reinigungseffekt wird also, zusätzlich zum Verbrauch verschiedener Zahnpastenmengen, ebenso differieren.

Außerdem ist nicht festzustellen, ob der Proband zum Zeitpunkt der ersten Plaquesfärbung seine "normale" Plaquebedeckung aufweist, oder ob er sich diese durch ein knapp vorheriges Ereignis, wie zum Beispiel Apfelessen, verändert hat. Das gleiche gilt für die Messung nach dem sechswöchigen Versuch. Man müßte, um diese Fehler auszuschalten, möglichst schon sechs Wochen vor Applikation der Enzympaste jeden Tag zur gleichen Zeit die Plaque messen und so einen Durchschnitt aufstellen. Das gleiche sollte man während der sechs Versuchswochen durchführen, um dann die beiden Durchschnitte miteinander zu vergleichen. Die Forderungen sind aus Zeitgründen wohl kaum realisierbar, obwohl durch die alleinige photographische Methode viel Zeit eingespart werden könnte.

IX. Statistische Auswertung

1. Tabellen der Flächendifferenzen

Für die Flächendifferenzen zwischen Voruntersuchung (V) und Nachuntersuchung (N) ergaben sich folgende Werte. Auffällig ist das Überwiegen der positiven Werte in allen Gruppen. Man kann hieraus schließen, daß die Probanden im Bewußtsein einer Kontrolle besser als bisher ihre Zähne geputzt haben.

Bei der zeichnerischen Registrierung wurden die Flächendifferenzen zwischen V und N (= Vor- und Nachuntersuchung) für die labiale Zahnfläche nochmals gesondert aufgestellt, um einen Vergleich mit der photographierten Registrierung zu ermöglichen.

Tab. 1 Zeichnung der Labial- und Lingualfläche

H	G	I	K
505	60	1485	313
-143	40	-413	-14
325	-345	21	315
-53	-314	340	298
-112	1457	133	-226
432	348	139	179
179	414	155	---
93	112	134	901
152	211	209	493
417	-3	-247	182

Tab. 2 Photographie Labialfläche

H	G	I	K
---	278	1111	477
112	11	3	-618
-2	109	-126	-120
51	51	-70	346
26	217	185	-303
13	118	145	315
-77	-299	316	---
21	-1	---	1315
-92	---	412	-485
128	-162	249	23

Tab. 3 Zeichnung Labialfläche

H	G	I	K
532	69	642	183
27	85	0	-153
-2	20	-182	-80
38	-81	25	284
15	216	212	-107
25	133	126	-129
38	-97	132	---
-23	79	80	621
8	107	221	-149
483	-95	128	-21

2. Ergebnis der statistischen Auswertung

Die statistische Auswertung wurde nach dem Verfahren der einfachen Varianzanalyse mit ungleichem Stichprobenumfang an dem Institut für Medizinische Statistik und Dokumentation der Universität Mainz durchgeführt. Der Signifikanztest ergab keinen signifikanten Unterschied aller drei Auswertungsarten (I. Zeichnung Labial- und Lingualfläche, II. Photographie Labialfläche, III. Zeichnung Labialfläche).

Folgende Werte wurden berechnet :

Tab. 4 Tafel der Mittelwerte : Zeichnung Labial- und Lingualfläche (s. Tab. 1)

<u>Gruppe</u>	<u>Gruppen- umfang</u>	<u>Mittelwert der Plaquefläche- differenzen</u>	<u>Varianz</u>	<u>Standard- abweichung</u>
H	10	179,5	55395,2	235,4
G	10	198,0	255911,6	505,9
J	10	195,6	254769,2	504,7
K	9	271,2	99403,9	315,3

Tafel der Varianzanalyse

<u>Streuung</u>	<u>SAQ</u>	<u>FG</u>	<u>MAQ</u>
Zwischen den Gruppen	46541,2	3	15513,7
Innerhalb der Gruppen	5889914,5	35	168283,3
Total	I	5936455,7	38

Signifikanztest

$F = 0,09$

$F (5\%) = 2,9$

Kein signifikanter Unterschied

SAQ = Summe der Abweichungsquadrate

FG = Freiheitsgrad

MAQ = Mittel der Abweichungsquadrate

Tab. 5 Tafel der Mittelwerte : Photographie Labialfläche
(s. Tab. 2)

<u>Gruppe</u>	<u>Gruppen- umfang</u>	<u>Mittelwert</u>	<u>Varianz</u>	<u>Standardabweichung</u>
H	9	40,4	4061,3	63,7
G	9	35,8	32128,2	179,2
J	9	247,2	136485,9	369,4
K	9	105,6	349913,0	591,5

Tafel der Varianzanalyse

<u>Streuung</u>	<u>SAQ</u>	<u>FG</u>	<u>MAQ</u>
Zwischen den Gruppen	262497,2	3	87499,1
Innerhalb der Gruppen	4180707,6	32	130647,1
Total	4443204,8	35	

Signifikanztest

F = 0,7

F (5%) = 2,9

Kein signifikanter Unterschied

Tab. 6 Tafel der Mittelwerte : Zeichnung Labialfläche
(s. Tab. 3)

<u>Gruppe</u>	<u>Gruppen- umfang</u>	<u>Mittelwert</u>	<u>Varianz</u>	<u>Standardabweichung</u>
H	10	114,1	43465,4	208,5
G	10	43,6	11156,3	105,6
J	9	153,8	47869,2	218,8
K	9	49,9	69740,9	264,1

Tafel der Varianzanalyse

<u>Streuung</u>	<u>SAQ</u>	<u>FG</u>	<u>MAQ</u>
Zwischen den Gruppen	78423,6	3	26141,2
Innerhalb der Gruppen	1432475,7	34	42131,6
Total	1510899,4	37	

Signifikanztest

F = 0,6

F (5%) = 2,9

Kein signifikanter Unterschied

Durch die photographische Registrierung konnte leider keine ausschlaggebende Objektivierung der Versuchsanordnung geschaffen werden. Auch hier gab es keinen statistisch gesicherten Unterschied.

3. Ergebnis des Vergleichstestes zwischen
Auswertungsarten II und III

Weiterhin wurde geprüft, ob das umständliche und zeitraubende Abzeichnen der Belagflächen durch das wesentlich einfachere und schnellere Verfahren der Photographie ersetzt werden kann. Diese Frage wurde mit Hilfe der Regressions- und Korrelationsanalyse untersucht.

Durch die Regressionsanalyse wird eine Gerade ermittelt, die den Datenpunkten am besten angepaßt ist, d.h., die die Eigenschaft hat, daß die Summe der quadratischen Abweichungen der Einzelwerte von den jeweiligen Punkten auf der Geraden ein Minimum wird. Für die Regression Photoauswertung (y) auf Zeichnung (x) ermittelten wir folgende lineare Beziehung :

$$y = 160,7 + 0,5 x$$

Die Frage, wie gut diese lineare Beziehung durch die Daten bestimmt wird, wird durch eine Korrelationsanalyse bzw. durch Berechnung des Bestimmtheitsmaßes geklärt. Es ergab sich ein signifikanter (signifikant von 0 verschiedener) Korrelationskoeffizient $r = 0,493$, was einem Bestimmtheitsmaß von $B = r^2 = 0,243$ entspricht. Daraus läßt sich die Aussage ableiten, daß zwar eine lineare Beziehung zwischen Photoauswertung und Plaque-Zeichnung besteht, diese aber nur 24% der Gesamtvarianz erklärt, so daß man nicht empfehlen kann, das Abzeichnen der Plaques durch Photographie zu ersetzen.

Der Unterschied kann durch drei Umstände eingetreten sein :

1. Die Photographie erfaßt nicht die für den Versuch wichtigen Lingualflächen der Zähne;
2. die Methode der Abzeichnung der Plaque über den Zahnarztspiegel ist sehr ungenau;

3. es bestehen Unterschiede in der Genauigkeit zwischen Photo und Abzeichnung der Labialflächen.

Am wahrscheinlichsten erscheint mir der Punkt 2, da es, auch bei einiger Übung, sehr viel Mühe bereitete, die Abzeichnung originalgetreu zu gestalten.

4. Graphische Darstellung der Mittelwerte (s.Abb. 5)

Die Verschiedenheit der Ergebnisse durch die drei Auswertungsarten zeigt die graphische Darstellung deutlich. Man könnte zwar bei Auswertungsart II und III in der Gruppe J (Kombination von Proteinase und Dextranase) eine Enzymwirkung erkennen, aber Auswertungsart I stört diese Annahme. Der Grund dafür könnte darin liegen, daß das Abzeichnen der Lingualflächen der Zähne über den Zahnarztspiegel mit besonders großen Ungenauigkeiten verbunden ist. Bezieht man aufgrund dessen Auswertungsart I nicht in die Betrachtungen ein, dann könnte man von einer Wirksamkeit der Kombinationspasten reden. Statistisch gesichert ist sie nicht.

5. Aussage der Ergebnisse

Das vorliegende Ergebnis besagt zweierlei :

1. Die Enzympaste zeigt bei dieser Enzymkonzentration keine Wirkung auf die flächenmäßige Veränderung der Plaque,
2. die Versuchungenauigkeiten waren so groß, daß eine evtl. geringe Wirkung der Enzyme nicht signifikant nachgewiesen werden konnte. Vermutlich sind die unter VIII. 4. angeführten Fehlermöglichkeiten die ausschlaggebenden, was durch die Ähnlichkeit zwischen Photographie und Abzeichnung der Labialflächen gestützt wird. Der mögliche Grund für den Unterschied zu Auswertungsart I wurde schon erwähnt. Das Versuchsergebnis bestätigt die schon im theoretischen Teil dieser Arbeit erwähnten Vermutungen, daß mit so einfachen Mitteln wie hier dem vielfältigen Geschehen der Kariesentstehung durch die Plaque nicht beizukommen ist.

Auswertungsart

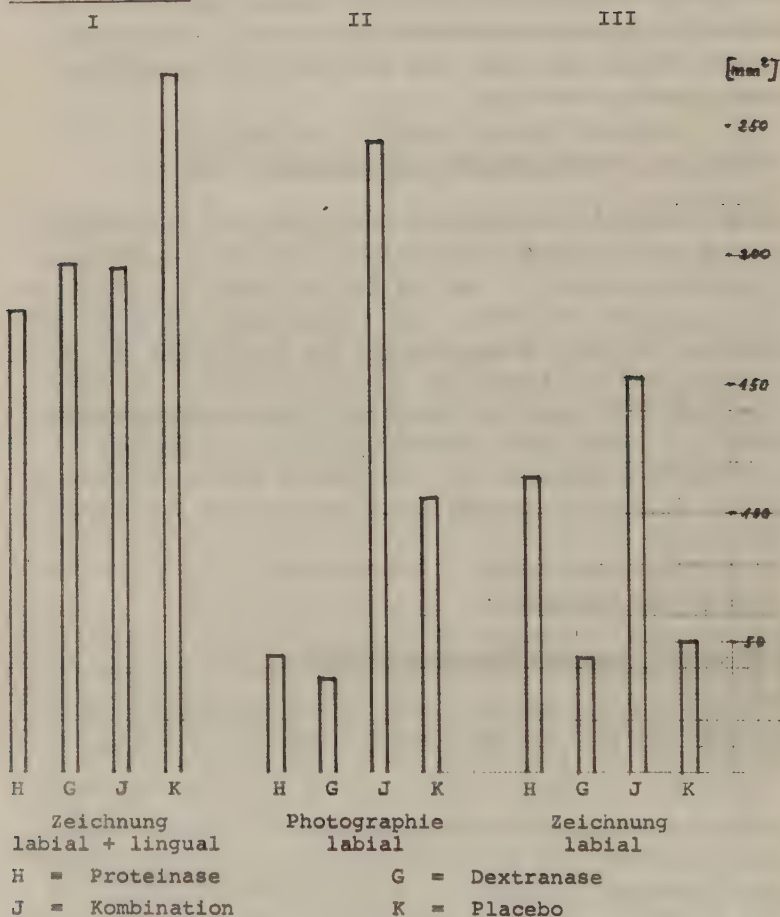


Abb. 5 Die Ordinate gibt die Größe der Plaquedifferenz im Mittel der jeweiligen Gruppe in mm^2 an. Sie ist als Maß für die Wirksamkeit der Paste zu bewerten. Auf der Abszisse sind die 4 Pasten jeweils in den drei Auswertungsarten aufgetragen.

X. Diskussion

Die vorliegende Arbeit befaßt sich mit Karieshemmstoffen in einem klinischen Blindversuch mit vierzig Probanden. Es wurde die Wirksamkeit der Präparate nicht am Ausmaß der Karies selbst gemessen, sondern an der Reduzierung der Plaque. Es wurde also vorausgesetzt, daß eine Plaquereduzierung eine Kariesreduzierung zur Folge hat.

Die Plaqueausdehnung an den Frontzähnen im Ober- und Unterkiefer wurde zeichnerisch (labial und lingual) und photographisch (nur labial) festgehalten in der Hoffnung, photographisch mit weniger Zeitaufwand genauere Ergebnisse zu erzielen. Die Regressionsanalyse zeigte jedoch, daß die Abzeichnung der Plaqueflächen nicht unbedenklich durch die photographische Aufnahme ersetzt werden kann. Die Irrtumswahrscheinlichkeit liegt unter 0,1%.

Zwei Enzympräparate, Protease und Dextranase, stellten die wirksamen Bestandteile dar, die mit einer herkömmlichen Zahnpastengrundlage dem Probanden zugeführt wurden. Die Protease sollte den initialen Speichelfilm aus Speichelproteinen, die Dextranase die extrazellulären Polysaccharide beseitigen.

Die Wirksamkeit der Dextranase wurde vom Untersucher nicht hoch eingeschätzt wegen mangelnder Spezifität des Enzyms, Schwierigkeiten bei der Zuführung, schnellen Nachlassens der Enzymaktivität und Vielfalt der Bakterienflora (auch Nicht-Dextran-Bildner sind kariogen).

Über den Mechanismus der Proteasewirkung auf die Plaque wurden Überlegungen angestellt. Aus den Ergebnissen zweier Autoren wurde geschlossen, daß die Protease den initialen Speichelfilm auf dem Zahn angreift.

Über die Toxizität der Proteasen werden gegenläufige Meinungen verschiedener Autoren zitiert, über die der Dextranase konnten keine Literaturhinweise gefunden werden.

Weder die Protease-Paste noch die Dextranase-Paste noch eine Kombination von beiden konnten gegenüber einer Placebo einen statistisch signifikanten Unterschied in der Plaquereduzierung aufweisen.

XI. Zusammenfassung

Zuerst wird der Plaqueaufbau aus biochemischer und bakteriologischer Sicht geschildert. Danach werden die Parameter für die Kariesentstehung aus der Plaque aufgezeigt. Auf diesen Voraussetzungen aufbauend, werden die angenommene Dextranase- und Proteasewirkung auf die Plaque erläutert und bisher in der Literatur beschriebene Versuche zu diesem Problem durchgesprochen.

Die Möglichkeit toxischer Schädigung des Organismus bei Dauermedikation mit Enzymen wird berücksichtigt. Es folgt die Beschreibung der Versuche. Je zehn Probanden putzten mit den drei Enzypasten und einer Placebo sechs Wochen lang die Zähne. Vor und nach dieser Zeit wurde die Plaquefläche der Frontzähne gemessen und die Differenz beider Messungen als Ausdruck für die Plaquereduzierung genommen.

Zwei Plaqueflächenregistriermethoden (photographisch, zeichnerisch) werden kritisch betrachtet, außerdem mögliche Fehlerquellen des Versuches aufgezeigt.

Die statistische Auswertung ergab keinen signifikanten Unterschied zwischen den vier Versuchsgruppen; die Wirkung der Enzyme wird in Frage gestellt. Es wurde eine Regressions- und Korrelationsanalyse durchgeführt, um die Möglichkeit zu erkennen, ob das umständliche und zeitraubende Abzeichnen der Plaqueausdehnung an Labial- und Lingualflächen der Zähne durch eine Photographie ersetzt werden kann.

XII. Literaturverzeichnis

1. ADAM, W.E., S. THIRNAGAND, G.J. SCHMITT :
Über die Unschädlichkeit von Enzymen in
Waschmitteln.
Fette, Seifen, Anstrichmittel H. 9 (1970) 797
2. BLOCH, K. u.Mitarb. :
Kariesverhütung durch Dextranase ?
Zahnärztl.Prax. 4 (1970) 40
3. BOWEN, W.H. :
Effects of Dextranase on Cariogenic and non
Cariogenic Dextrans.
Brit.dent.J. 124 (1968) 347
4. CARLSSON, J. :
Zooglea-Forming Streptococci, Resembling Sc.
Sanguis, Isolated from Dental Plaque in Man.
Odont. Revy 16 (1965) 348
5. CARLSSON, J. :
Presence of Various Types of Nonhemolytic
Streptococci in Dental Plaque and in Other
Sites of the Oral cavity in Man.
Odont. Revy 18 (1967) 55
6. CARLSSON, J. :
Plaque Formation and Streptococcal Colonization
on Teeth.
Odont. Revy 19 (1968) 1
7. CARLSSON, J. :
Variations in Composition of Early Dental Plaque
Following Ingestions of Sucrose and Glucose.
Odont. Revy 19 (1968) 161
8. CRITCHLEY, P. et al. :
The Polymerisation of Dietary Sugars in Dental
Plaque.
Caries Res. 1 (1967) 112
9. CRITCHLEY, P., C.A. SAXTON, A.B. KALENDU :
The Histology and Histochemistry of Dental Plaque.
Caries Res. 2 (1968) 115
10. CRITCHLEY, P. :
The Breakdown of Carbohydrate and Protein matrix
of Dental Plaques.
Caries Res. 3 (1969) 249

11. DONOHUE, J.J., R.C. KESTENBAUM, W.J. KING :
The Utilization of Sugar by Selected Strains
of Oral Streptococci.
Proc. 44th Gen.meeting J.A.D.R. (1966) 52
12. DUCKSBURY, C.F.S., V.K. DANE :
Contact Dermatitis in Home Helps Following
the Use of Enzyme Detergents.
Brit.med.J. 1 (1970) 537
13. EDWARDSON, S. :
Characteristics of Caries Inducing Human Strepto-
cocci Resembling Str. Mutans.
Arch.Oral Biol. 13 (1968) 637
14. EULER, Herm. :
Handbuch der Zahnheilkunde.
Wien 1904
15. FITZGERALD, R.S. et al. :
The Effects of Dextranase Preparation on Plaque
and Caries in Hamsters. A Preliminary Report.
J.Amer.Dent.Ass. 76 (1968) 301
16. FLINDT, M.L.H. :
Pulmonary Disease due to Inhalation of Bacillus
Subtilis Containing Proteolytic Enzyme.
Lancet 1969, I, 1177
17. FROST, K. :
Einfluß fluorhaltiger Zahnpasten auf die Karies-
entwicklung beim Erwachsenen.
Zahnmed.Diss.Mainz 1965
18. FROSTELL, G., H.P. HEYES, R.H. LARSON :
Effect of Various Sugars and Sugar Substitutes
on Dental Caries in Hamsters and Rats.
J.Nutr. 93 (1967) 65
19. GEHRING, F. :
Über das Wachstum einiger Zahnplaquestreptokokken
auf festen und flüssigen Nährmedien mit verschie-
denen Zuckerkonzentrationen.
Zahnärztl.Z. 23 (1968) 914
20. GEHRING, F. :
Über das Säurebildungsvermögen und die Lebens-
fähigkeit von Plaquestreptokokken bei Rohrzucker-
konzentrationen von 5-70%.
Dtsch.Zahnärztl.Z. 24 (1969) 196
21. GIBBONS, R.J., S.S. SOKRANSKY :
Intercellular Polysaccharide Storage by Organisms
in Dental Plaque.
Arch.Oral Biol. 7 (1962) 73

22. GIBBONS, R.J., S.B. BANGHART :
Synthesis of Extracellular Dextran by Cariogenic Bacteria and its Presence in Human Dental Plaque.
Arch.Oral Biol. 12 (1967) 11
23. GIBBONS, R.J. :
Formation and Significance of Bacterial Polysaccharides in Caries Aetiology.
Caries Res. 2 (1968) 164
24. GIBBONS, R.J. and S.B. BANGHART :
Variation in extracellular Polysaccharide Synthesis by Cariogenic Streptococci.
Arch.Oral Biol. 13 (1968) 697
25. GLOXHUBER, Chr., J. MALASZKIEWICZ, M. POTOKAR :
Untersuchungen über die toxikologischen Eigenschaften von Waschmittelenzymen.
Fette, Seifen, Anstrichmittel H. 3 (1971) 182
26. GRIFFITH, J.F., J.E. WEAVER, M.S. WHITEHOUSE et al. :
Safety Evaluation of Enzyme Detergents. Oral and Cutaneous Toxicity, Irritancy and Skin Sensitization Studies.
Fol.Cosmet.Toxicol. 7 (1969) 581
27. GUGGENHEIM, B. et al. :
The Cariogenicity of Different Dietary Carbohydrates Tested on Rats in Relative Gutobiosis with a Streptococcus Producing Extracellular Polysaccharide.
Helv.Odont.Acta 10 (1966) 100
28. GUGGENHEIM, B. und H.E. SCHROEDER :
Biochemical and Morphological Aspects of Extracellular Polysaccharides Produced by Cariogenic Streptococci.
Helv.Odont.Acta 11 (1967) 131
29. GUGGENHEIM, B. und H.E. SCHROEDER :
Streptococci of Dental Plaques.
Caries Res. 2 (1968) 147
30. GUGGENHEIM, B., K.G. KÖNIG, H.R. MÜHLEMANN, B. REGOLATI :
Effect of Dextranase on Caries in Rats Harboring on Indigenous Cariogenic Bacterial Flora.
Arch.Oral Biol. 14 (1969) 555
31. GUGGENHEIM, B. :
Extrazelluläre Polysaccharide und mikrobielle Plaques.
Zahnärztl.Prax. 21 (1970) 122

32. HARRISON, J.W.E., G.B. SALISBURY, D.D. ABBOTT,
E.W. PACKMAN :
Effect of Enzyme-Toothpaste upon Oral Hygiene.
J.Periodont. 34 (1963) 334
33. HEIN, J.W. :
A Study of the Effect of Frequency of Tooth-
brushing on Oral Health.
Dent.Res. 33 (1954) 708
34. JORDAN, H.V. :
Bacterial Aspects of Experimental Dental Caries.
Ann.N.Y.Acad.Sci. 131 (1965) 905
35. JORDAN, H.V., P.H. KEYES :
In Vitro Methods for the Study of Plaque Formation
and Caries Lesions.
Arch.Oral Biol. 11 (1966) 793
36. KÖNIG, K.G. und B. GUGGENHEIM :
In-Vivo-Effects of Dextranase on Plaque and
Caries.
Helv.Odont.Acta 12 (1968) 48
37. KRASSE, B. :
The Effect of Caries-Inducing Streptococci in
Hamsters fed Diets with Glucose or Sucrose.
Arch.Oral Biol. 10 (1965) 223
38. KRASSE, B. :
Human Streptococci and Experimental Caries in
Hamsters.
Arch.Oral Biol. 11 (1966) 427
39. KRASSE, B., H.V. JORDAN, S. EDWARDSON, J. SVENSSON,
L. TRELL :
The Occurence of Certain Caries-Inducing Strepto-
cocci in Human Dental Plaque.
Arch.Oral Biol. 13 (1968) 911
40. KREMBEL, J., R.M. FRANK, A. DELUZARCHE :
Fractionation of Human Dental Plaques.
Arch.Oral Biol. 14 (1969) 563
41. LEACH, S.A. :
Kariesverhütung durch Dextranase ?
Zahnärztl.Prax. 21 (1970) 40
42. MOLLE, W.H. :
Efficacy of an Enzyme Toothpaste in the Retardion
of Dental Plaque.
J.So.Calif.Dent.Ass. 35 (1967) 391

43. MOTSCH, A. :
Biochemische und bakteriologische Aspekte der
Zahnkaries.
Umschau in Wissenschaft und Technik 24 (1967) 784
44. NEWSHOUSE, M.L., B. TAGG, S.J. POCKOCK, A.C.McEWAN :
An Epidemiological Study of Workers Producing
Enzyme Washing Powders.
Lancet 1970/I, 689
45. PACKMAN, E.W., D.D. ABBOTT, G.B. SALISBURY,
J.W.E. HARRISON :
Effect of Enzyme-Chewing Gums upon Oral Hygiene.
J.Periodont. 34 (1963) 255
46. PEPYS, J., F.E. HARGRAVE, J.L. LONGBOTTOM,
J. FANX :
Allergic Reactions of the Lungs to Enzymes of
Bacillus Subtilis.
Lancet 1969/I, 1181
47. RANKE, E., B. RANKE, G. AHRENS, W. HEESCHEN :
Plaqueflora und Zahnkaries.
2. Mitteilung : Vorkommen dextranbildender
Streptokokken.
Dtsch.zahnärztl.Z. 24 (1969) 880
48. RANKE, E., B. RANKE :
Zur Bedeutung verschiedener Plaque-Streptokokken
für die Karies.
Dtsch.zahnärztl.Z. 25 (1970) 270
49. RANKE, E., B. RANKE :
Plaqueflora und Zahnkaries.
3. Mitteilung : Ein Beitrag zur Kenntnis der
biochemischen Leistungsfähigkeit der Streptokokken-
arten viridans und serolog. Gr.K. aus Zahnplaque
kariesfreier und kariesaktiver Personen.
Dtsch.zahnärztl.Z. 25 (1970) 1164
50. RICHTER, P. :
Karieshemmstoffe mit lokaler Enzymwirkung im Tier-
experiment.
Zahnmed.Diss.Mainz 1967
51. RIETHE, P. :
Die Mundhygiene.
In : Praxis der Zahnheilkunde, Bd. 1, hersg.
v. HAUNFELDER, D., L. HUPFAUF, W.KETTERL, G.SCHMUTH.
München 1969

52. ROSEN, S., W.S. LAMEY, J.E. O'MALLEY :
Dental Caries in Gnotobiotic Rats Inoculated
with Lactobacilli Casei.
J.Dent.Res. 47 (1968) 358
53. SAVARA, B.S., T. SUHER :
Dental Caries in Children One to Six Years of
Age as Related to Socioeconomic Level, Food
Habits and Toothbrushing.
J.Dent.Res. 34 (1955) 870
54. SCHROEDER, H.E. :
Die Struktur der Zahnbeläge.
Zahnärztl.Prax. 21 (1970) 122
55. SHAVER, K.H., T. SCHIFF :
Oral Chemical Functionality of Enzyme A P
Used as a Mouthwash.
J.Periodont. 41 (1970) 333
56. SMOLLICH, H. :
Über den Einfluß fluorhaltiger Zahnpaste auf
den Kariesbefall jugendlicher Personen.
Zahnmed.Diss. Mainz 1964
57. STEIGLEDER, G.K. :
Hautveränderungen durch biologisch aktive Wasch-
mittel.
Dtsch. med.Wschr. 95 (1970) 1372
58. DE STOPPELAAR, J.P., J. VAN HOUTE, O. BACKER
DIRKS :
The Relationship between extracellular Polysaccharide-
Producing Streptococci and Smooth Surface Caries
in 13-Year-Old Children.
Caries Res. 3 (1969) 190
59. TRAULSEN, H. :
Zahnreinigung und Kariesbefall.
Zahnärztl.Mitt. 58 (1968) 1021
60. WANNENMACHER, E. :
Die Bedeutung der richtigen Zahnpflege für die
Gesunderhaltung des Kauorgans.
Dtsch.Zahnärztebl. 19 (1965) 417
61. WEISSENSTEIN, P., A. RADICKE, H.B.G. RALWISON :
Chemical Studies of Dental Caries in Small Groups
of Children : Dentifrice, Brushing and Parti-
cipation Effects.
J.Dent.Res. 33 (1954) 690

62. WÜTHRICH, B., F. OTT :
Berufsasthma durch Proteasen in der Wasch-
mittelindustrie.
Schweiz.med.Wschr. 99 (1969) 1584
63. WÜTHRICH, B. :
Hautveränderungen und Asthma bronchiale durch
biologisch aktive Waschmittel.
Dtsch.med.Wschr. 95 (1970) 1538
64. ZINNER, P. et al. :
Experimental Caries Induced in Animals by
Streptococci of Human Origin.
Proc.Soc.Exp.Biol.Med. 118 (1965) 766
65. WOOD, J.M., P. CRITCHLEY :
The Extracellular Polysaccharide Produced from
Sucrose by a Cariogenic Streptococcus.
Arch.Oral Biol. 11 (1966) 1039

Meinen herzlichsten Dank möchte ich Herrn Professor
Dr.Dr. W. Ketterl aussprechen für die Überlassung
des Themas sowie für die guten Ratschläge.

Herzlich danken möchte ich auch Herrn Dr. Scheidt
für die Beratung bei der statistischen Auswertung.

L e b e n s l a u f

Am 13.8.1944 wurde ich als Sohn des Regierungsbau-
oberamtmannes Adolf Clausen und seiner Ehefrau Alwine
Clausen, geb. Lorenzen, in Graal-Müritz, im Kreise
Rostock in Mecklenburg geboren.

Gegen Ende des 2. Weltkrieges zogen wir über Rendsburg
und Brunsbüttelkoog schließlich nach Emden, wo ich Ostern
1951 eingeschult wurde. Ab 1955 besuchte ich das Gymnasium
für Jungen in Emden und bestand dort 1965 das Abitur.

Am 1.4.1965 trat ich als Soldat auf Zeit für 2 Jahre
in den Dienst der Bundeswehr ein und wurde am 30.3.1967
als Leutnant der Reserve entlassen.

Im Sommersemester 1967 begann ich an der Johannes-
Gutenberg-Universität in Mainz das Studium der Biologie,
wechselte ein Semester später in die Zahnmedizinische
Fakultät über, legte nach dem Sommersemester 1969 die
zahnärztliche Vorprüfung, und, nach Immatrikulation in
die Medizinische Fakultät, nach dem Wintersemester 1970/
71 die ärztliche Vorprüfung ab. Im Juli 1972 werde ich
das zahnärztliche Staatsexamen abgeschlossen haben.

Universitätsdruckerei 65 Mainz G. m. b. H.

